



© В. Н. Кипень<sup>1</sup>, С. Б. Мельнов<sup>2</sup>,  
Р. М. Смолякова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ГУ «НПЦ Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь», Минск;

<sup>2</sup>УО «Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова» БГУ, Минск;

<sup>3</sup>ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова», Минск

Проведено изучение вклада полиморфных вариантов генов *XRCC1*, *XRCC3* и *PALB2* в увеличение риска развития спорадических форм рака молочной железы (РМЖ) у пациентов из Республики Беларусь. Определены генотипы повышенного риска развития РМЖ: АА — для полиморфизма р.Р559Q (*PALB2*); АG — для р.Q399R (*XRCC1*) и ТТ — для р.Т241М (*XRCC3*). Показано, что генотип GG ОНП р.Q399R (*XRCC1*) ассоциирован с высоко- и среднедифференцированными опухолями. Также выявлена статистически значимая связь между наличием/отсутствием метастазов в регионарных лимфоузлах и генотипами TG для ОНП р.Т1100Т (*PALB2*) и ТТ для ОНП р.Т241М (*XRCC3*). При наличии генотипа ТТ (р.Т241М, *XRCC3*) показано значительное увеличение риска локального рецидивирования у пациентов с РМЖ.

✿ **Ключевые слова:** рак молочной железы; эксцизионная репарация; гомологичная рекомбинация; полимеразная цепная реакция; отношение шансов.

Поступила в редакцию 21.07.2015  
Принята к публикации 16.11.2015

## РОЛЬ ГЕНОВ *XRCC1*, *XRCC3* И *PALB2* В ГЕНЕЗЕ СПОРАДИЧЕСКИХ ФОРМ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГР — гомологичная рекомбинация  
ДИ — доверительный интервал  
ЗНО — злокачественные новообразования  
ОНП — однонуклеотидный полиморфизм  
ПААГ — полиакриламидный гель  
РМЖ — рак молочной железы  
РЯ — рак яичников  
ЭРО — эксцизионная репарация оснований

### ВВЕДЕНИЕ

В структуре всех злокачественных новообразований (ЗНО) женского населения Республики Беларусь частота ЗНО молочной железы в 2013 г. составила около 18,0%. Так, по данным Белорусского канцер-регистра раковых заболеваний (Суконко, 2014), интенсивные показатели заболеваемости (на 100 тыс. женского населения) демонстрируют ежегодное увеличение частоты выявления новых случаев заболевания. За период 2008–2013 гг. отмечено увеличение первичной заболеваемости с 70,7 до 76,4 (рис. 1).

Во всем мире рак молочной железы (РМЖ) чрезвычайно редко встречается среди женского населения в возрасте до 20 лет. Число случаев его значительно возрастает между 25 и 60 годами, после чего рост продолжается, но медленнее. Риск развития рака молочной железы в возрасте после 65 лет приблизительно в 6 раз выше, чем до 65 лет, и почти в 150 раз выше, чем в возрасте до 30 лет. Поздняя менопауза (после 55 лет) также увеличивает риск развития РМЖ.

Одним из приоритетных направлений исследования патогенеза РМЖ является выявление предрасполагающих к раннему развитию данной онкопатологии генотипов и их ассоциаций. В то же время генотипирование по ключевым генам систем поддержания стабильности генома (в частности, систем репарации повреждений ДНК) позволяет адекватно выбирать курсы лучевой и адъювантной химиотерапии в рамках персонализированного подхода в медицине.

Под воздействием факторов химической и физической природы различного генеза могут возникать изменения на первичном уровне системы хранения и передачи наследственной информации — непосредственно в последовательности гена. При этом наличие изменений в кодирующих регионах генов не является единственно возможной ситуацией, приводящей к функциональной неполноценности кодируемого данным геном продукта. Изменения в интронных областях, промоторах и других регионах, ответственных за уровень экспрессии данного гена, также могут стать причиной частичной или полной утраты им своих функций. Наличие репарационных систем (фотореактивация, апуринизация, эксцизионная репарация, негомологичное воссоединение разорванных концов ДНК, гомологичная рекомбинация, SOS-репарация,



Рис. 1. Динамика интенсивных и стандартизованных показателей заболеваемости ЗНО молочной железы

пострепликативная репарация ДНК и др.) с различным спектром задач позволяет клетке сохранять целостность ДНК и избегать состояния геномной нестабильности в процессе клеточного цикла (Мутовин, 2010).

Одна из репарационных систем эукариот — эксцизионная репарация оснований (ЭРО) — необходима для точечного удаления поврежденных оснований ДНК, индуцированных окислительными и алкилирующими агентами. Различают длинный и короткий пути эксцизионной репарации оснований. В состав ЭРО-комплекса короткого пути входят белки APEX, PARP,  $\rho\text{ol}\beta$ , XRCC1 и Lig3, а в ЭРО-комплекс длинного пути — APEX, Pol  $\beta$ , Pol  $\delta$  субъединица 3, Pol  $\epsilon$ , Fen1 и др.

Белок, кодируемый геном XRCC1, считается интегральным регулятором ЭРО. Некоторые полиморфные варианты данного гена — Arg194Trp, Arg280His, Arg399Gln — характеризуются изменением конформации белка XRCC1, снижающей сродство к многокомпонентному белковому комплексу, участвующему в процессе репарации, уменьшая тем самым активность координатора эксцизионной репарации и скорость сборки всего комплекса. Некоторые авторы полагают, что определенные полиморфные варианты XRCC1 могут повлиять на индивидуальный риск развития злокачественных новообразований, в том числе РМЖ (Zippich et al., 2010; Vu et al., 2014; Chen et al., 2009).

Еще одна система репарации — гомологичная рекомбинация (ГР) — имеет важное значение для точной репарации двухцепочечных разрывов ДНК, которые являются потенциально летальными повреждениями для клетки. ГР происходит в конце S-фазы — начале G<sub>2</sub>-фазы клеточного цикла и включает в себя репликацию одноцепочечных нитей ДНК с использованием интактной цепи в качестве матрицы. Репарация двухцепочечных разрывов играет существенную роль в поддержании геномной стабильности — нарушение функциональной активности белков, участвующих в данном виде репарации, приводит к развитию разного рода онкопатологии, например к РМЖ и раку яичников (РЯ) (Romanowicz-

Makowska et al., 2011; Silva et al., 2010). В частности, следует заметить, что репарация двуниевых разрывов ДНК происходит в определенные периоды клеточного цикла, остановка в которых приводит к возрастанию эффективности всего процесса репарации. В механизмах ГР задействован ряд генов: *Rad50*, *Mre11*, *NBS1*, *XRCC3*, *BRCA2*, *PALB2* и др.

Продукт гена XRCC3 непосредственно взаимодействует с RAD51 C и RAD51D при репарации двухцепочечных разрывов. Дефекты в гене XRCC3 увеличивают риск развития РМЖ, а также предрасполагают к развитию злокачественной меланомы, которая возникает *de novo* или на фоне существовавших ранее доброкачественных невусов (He et al., 2013).

Мутации в гене BRCA2 (который также является одним из ключевых генов в ГР) многократно повышают риск развития РМЖ и/или РЯ. В целом ген BRCA2, наряду с другими генами, играет ключевую роль в процессах ГР, однако нарушение его функций может происходить не только за счет мутационных изменений, но и в процессе изменения белковых взаимодействий. Продукт гена PALB2 является необходимым компонентом белкового комплекса, задействованного в ГР, наряду с BRCA2. Одной из функций белка PALB2 является координация BRCA2 в ядерном матриксе при механизмах ГР, что приводит к стабилизации ключевых ядерных структур (хроматина и ядерного матрикса), тем самым регулируется процесс рекомбинационной репарации в контрольных точках. Соответственно, PALB2 выступает в роли регулятора ключевых клеточных функций BRCA2 в обеспечении процессов онкосупрессии (Xia et al., 2009; Sy, 2009; Zhang et al., 2009).

Таким образом, роль генов эксцизионной репарации оснований и гомологичной рекомбинации трудно переоценить. Нарушения в скоординированной работе систем поддержания стабильности генома, как правило, являются начальным звеном в цепочке всех событий, приводящих к злокачественной трансформации клетки.

Таблица 1

## Последовательности праймеров и характеристики ПЦР-продуктов и рестриктов, используемых в ПЦР

Ген/ полиморфизм (rs)	Последовательность праймера 5' > 3'	T <sub>a</sub> , °C	Метод*	Размер рестриктов (п. о.)
<i>PALB2</i> p.T1100T (rs45516100)	F 5'-TGTCACCCATAGAGTAGCA-3' R 5'-CTCAACAGTTCCTAGACGGCA-3'	56	ПДРФ (HinfI)	TT (25,50,88,196) TG (25,50,88,138,196) GG (25,138,196)
<i>PALB2</i> p.R559Q (rs152451)	F 5'-AAAAGGAAGTGCCAGGCAAATAGT-3' R 5'-TGCACAGGACAACCAAGTTCA-3'	56	ПДРФ (TaqI)	GG (65,86,206) AG (65,86,151,206) AA (151,206)
<i>XRCC1</i> p.Q399R (rs25487)	F 5'-ACTGCTCCTCCAGCCTTTTC-3' R 5'-CAACACCCCAAGTACAGCC-3'	56	ПДРФ (MspI)	AA (345) AG (101,244,345) GG (101,244)
<i>XRCC3</i> p.T241M (rs861539)	F 5'-TGGTCATCGACTCGGTGGCA-3' R 5'-TTCTCGATGGTTAGGCACAGGCT-3'	64	ПДРФ (NlaIII)	CC (288) CT (93,195,288) TT (93,195)

\* — ПДРФ — метод полиморфизма длин рестриционных фрагментов (приведена эндонуклеаза рестрикции)

Цель данного исследования — изучить вклад однонуклеотидных замен в генах *XRCC1*, *XRCC3* и *PALB2* в риск развития спорадических форм РМЖ у пациентов из Республики Беларусь.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

## Клинический материал

В основную группу исследования были включены 169 пациентов со спорадической формой РМЖ. Критериями отбора пациентов для исследования являлись: 1) отсутствие основных патогенетически значимых мутаций в генах *BRCA1* (с.5238insC, с.185delAG, с.300T>G, с.4153delA), *BRCA2* (с.6174delT), *TP53* (р.R273C, р.R248W, р.R175H, р.R282W, р.R337H), *CHEK2* (с.1100delC, с.IVS2+1G>A) и *NBS1* (с.657del5); 2) отсутствие в личном анамнезе случаев билатеральных (как синхронных, так и метахронных) форм РМЖ; 3) отсутствие ранней манифестации заболевания (из исследования были исключены 2 случая РМЖ — возраст постановки диагноза составил 25,6 и 24,4 года). Возрастная медиана для пациентов с РМЖ на момент возникновения опухоли составила 45,0 (25-я перцентиль — 40,2 года, 75-я перцентиль — 48,2 года, возрастной интервал — 29,1–54,1 года).

В группу сравнения вошли 185 условно здоровых пациента без онкологической патологии в анамнезе на момент забора крови, возрастная медиана составила 43,6 года (25-я перцентиль — 38,2 года, 75-я перцентиль — 48,5, возрастной интервал — 31,2–52,6 года). Группа сравнения соответствовала по возрасту и этническому составу выборке больных РМЖ.

Все участники исследования подписали информированное согласие на проведение молекулярно-генетических исследований.

## Выделение ДНК

Все образцы ДНК были выделены из лейкоцитов периферической крови с помощью наборов «ДНК-экспресс-кровь» (НПФ Литех, РФ), а также с помощью метода водно-метанольной экстракции по протоколу Helene et al. с модификациями (Helene et al., 2009).

## Генотипирование

Анализ ОНП р.Т1100Т и р.Р559Q в гене *PALB2*, а также р.Q399R в гене *XRCC1* и р.Т241М в гене *XRCC3* проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) на приборе PeqLab Primus 96 Advanced (EU, Germany) с последующей обработкой соответствующими рестриктазами (метод полиморфизма длин рестриционных фрагментов — ПДРФ). Последовательности праймеров и характеристики ПЦР-продуктов и рестриктов (с указанием температуры отжига (T<sub>a</sub>) и используемых рестриктаз фирмы NEB, USA) представлены в таблице 1.

Разделение аллелей осуществляли в 10 % (стоковый раствор T=30,0 %, C=3,3 %) неденатурирующем полиакриламидном геле (ПААГ) с последующей окраской бромистым этидием (рис. 2).

## Статистический анализ данных

Распределение генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга в программе [www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml](http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml) с использованием Hardy–Weinberg equilibrium calculator (Rodriguez et al., 2009). Наличие различий в распределениях частот аллелей гена в группах обследованных, а также ассоциаций с клинико-морфологическими характеристиками опухоли оценивали по критерию  $\chi^2$  или точному критерию Фишера (при  $n < 5$ ) с использованием пакета программ «IBM SPSS Statistics 20.0.0». Обсуждаются результаты с достоверностью различий при  $p$ -value  $< 0,05$  и с тенденцией различий при  $< 0,1$ .

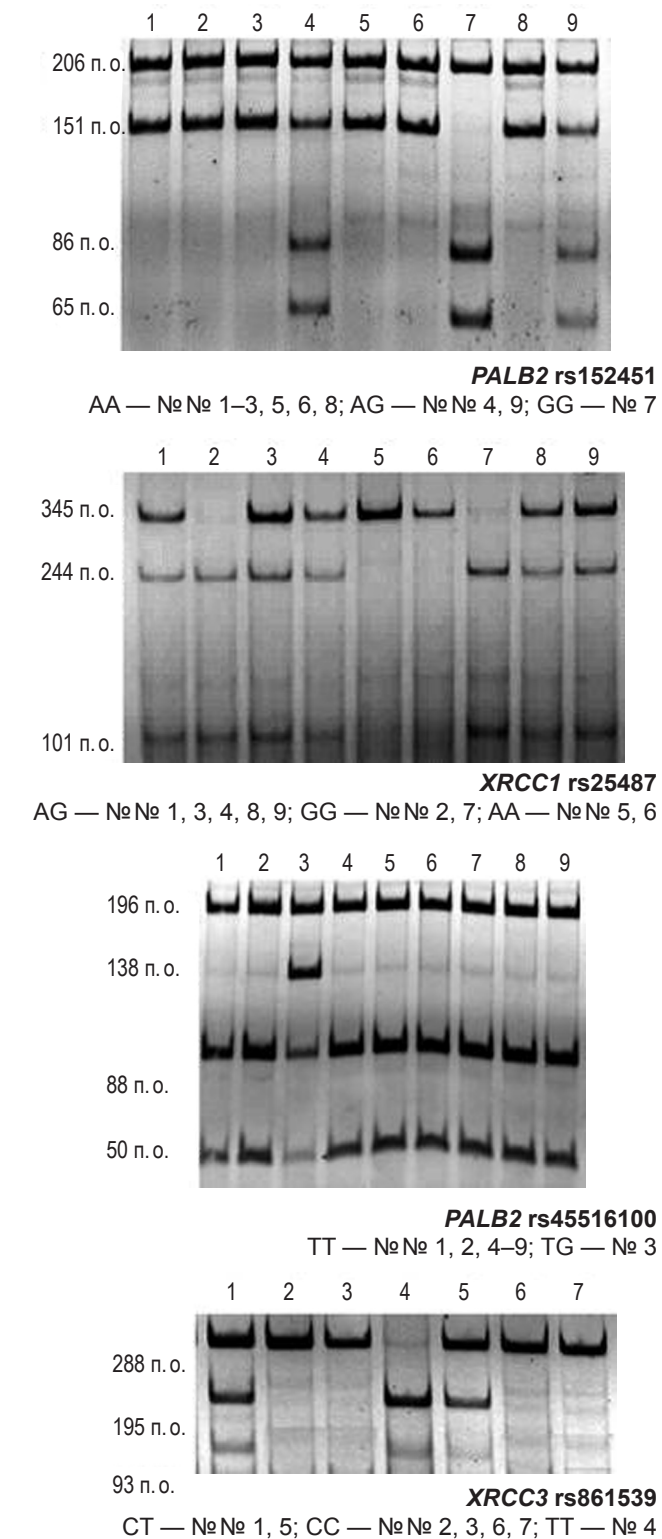


Рис. 2. Результаты ПААГ-электрофореза для исследуемых полиморфных вариантов

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами было проведено генотипирование по исследуемым полиморфным вариантам в генах *PALB2*,

*XRCC1* и *XRCC3* среди пациентов со спорадическими формами РМЖ, а также в группе сравнения. В результате были выявлены статистически значимые различия по частотному распределению генотипов в группе пациентов с РМЖ относительно группы сравнения по ОНП: р.Р559Q (*PALB2*) и р.Т241М (*XRCC3*), а в отношении полиморфизма р.Т1100Т (*PALB2*) выявлены также различия и по частоте встречаемости аллелей. Так, частота аллели А в группе пациентов с РМЖ — 89,8 %, аллели G — 10,2 %; частота аллели А в группе сравнения — 81,6 %, аллели G — 18,4 % (уровень значимости  $p = 0,001$ ).

В отношении ОНП р.Т1100Т (*PALB2*) и р.Т241М (*XRCC3*) статистически значимых различий выявлено не было — распределение генотипов в группе пациентов с РМЖ не отличается от такового в группе сравнения. Однако стоит отметить, что были найдены различия между сравниваемыми группами для ОНП р.Т241М на уровне тенденции ( $p = 0,06$ ): аллель Т чаще встречается в группе пациентов с РМЖ. Результаты проведенного генотипирования суммированы в таблице 2.

Таблица 2

### Результаты генотипирования по четырем исследуемым локусам

Ген/ полиморфизм	Генотип/ аллель	Кол-во пациентов, относительная частота, % (абс. частота)		p*
		Основная группа (n = 169)	Группа сравнения (n = 185)	
<i>PALB2</i> р.Т1100Т (rs45516100)	ТТ	156	173	>0,05
	TG	10	12	
	GG	3	—	
	аллель Т	95,3 %	96,8 %	>0,05
	аллель G	4,7 %	3,2 %	
<i>PALB2</i> р.Р559Q (rs152451)	GG	1	1	0,005
	AG	34	66	
	AA	134	118	0,004
	аллель G	10,7 %	18,4 %	
аллель А	89,3 %	81,6 %		
<i>XRCC1</i> р.Т241М (rs25487)	AA	17	38	0,005
	AG	98	80	
	GG	54	67	>0,05
	аллель А	39,1 %	42,2 %	
	аллель G	60,9 %	57,8 %	
<i>XRCC3</i> р.Т241М (rs861539)	CC	86	84	0,04
	CT	68	94	
	TT	15	7	>0,05
	аллель С	71,0 %	69,1 %	
	аллель Т	29,0 %	30,9 %	

\* — показаны статистически значимые различия, использовали критерий  $\chi^2$ , при  $p < 5$  использовали точный критерий

Таблица 3

Расчет ОШ для исследуемых полиморфных вариантов

Полиморфизм	Генотип	Основная группа	Группа сравнения	$\chi^2$	p	ОШ	
		n = 169	n = 185			знач.	95 % ДИ
p.T1100T (PALB2)	TT	0,923	0,935	3,34	0,19	0,83	0,37–1,88
	TG	0,059	0,065			0,91	0,38–2,16
	GG	0,018	0			7,80	0,40–152,11
p.R559Q (PALB2)	GG	0,006	0,005	10,55	0,005	1,10	0,07–17,65
	AG	0,201	0,357			0,45	0,28–0,74
	AA	<b>0,793</b>	<b>0,638</b>			<b>2,17</b>	<b>1,35–3,51</b>
p.Q399R (XRCC1)	AA	0,101	0,205	10,53	0,005	0,43	0,23–0,80
	AG	<b>0,580</b>	<b>0,432</b>			<b>1,81</b>	<b>1,19–2,76</b>
	GG	0,320	0,362			0,83	0,53–1,29
p.T241M (XRCC3)	CC	0,509	0,454	6,40	0,04	1,25	0,82–1,89
	CT	0,402	0,508			0,65	0,43–0,99
	TT	<b>0,089</b>	<b>0,038</b>			<b>2,28</b>	<b>0,98–6,23</b>

Также был проведен анализ с целью определения генотипов повышенного риска развития РМЖ. Расчет отношения шансов (ОШ) по данным генотипирования в нашем исследовании позволил определить генотипы, ответственные за повышение риска развития спорадических форм РМЖ: для ОНП p.R559Q (PALB2) — генотип AA (ОШ=2,17; 95 % ДИ=[1,35–3,51]; p=0,005); для ОНП p.Q399R (XRCC1) — генотип AG (ОШ=1,81; 95 % ДИ=[1,19–2,76]; p=0,005); для ОНП p.T241M — TT (ОШ=2,28; 95 % ДИ=0,98–6,23; p=0,04) — таблица 3.

Также нами была предпринята попытка сравнить подгруппы (были сформированы на основании результатов генотипирования) в когорте пациентов с РМЖ по клинико-морфологическим характеристикам опухоли. Данный анализ позволил сделать предположение о возможной патогенетической роли исследуемых полиморфных вариантов в формировании индивидуальной картины клинического течения заболевания. Как показано в ряде исследований, тактика лечения пациента тесно связана с молекулярно-генетическим типом опухоли, а также с другими показателями: отдаленной безрецидивной и пятилетней выживаемостью (Neil et al., 2012; Lucci et al.,

2012; Kheirleiseid et al., 2011). Анализ проводился по таким параметрам, как наличие метастазов в регионарных лимфоузлах (N), степень злокачественности опухоли (G), наличие отдаленных метастазов и/или рецидивов (для рецидивов — в течение года с момента верификации диагноза), статус рецепторов к эстрогенам (PЭ) и прогестерону (PП), а также по уровню экспрессии Her-2/неу (табл. 4).

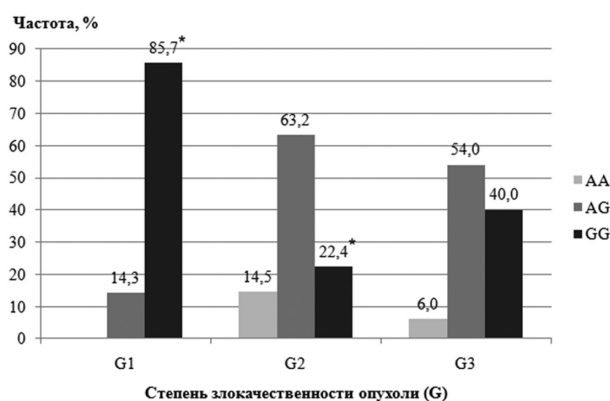
Статистический анализ данных позволил выявить различия с уровнем значимости p=0,007 для степени злокачественности опухоли (G) в зависимости от генотипа по полиморфизму p.Q399R (XRCC1). Генотип GG чаще встречается в случаях с высокодифференцированными опухолями молочной железы — в 85,7 %, а в случаях среднедифференцированного рака — в 22,4 %. Встречаемость генотипа AG среди низко- и среднедифференцированных опухолей находится в диапазоне 54,0–63,2 % (рис. 3 А). Выше нами было показано, что наличие генотипа AG сопряжено с повышенным риском развития РМЖ. Однако тот факт, что генотип GG встречается наиболее часто среди пациентов с высокодифференцированными опухолями (для более 80 % пациентов стадия заболевания была I–II, возраст верификации диагноза 39,4 ± 4,4 года), можно говорить

Таблица 4

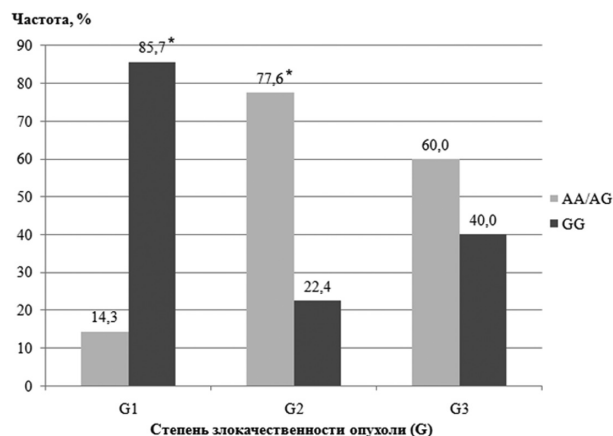
Связь клинико-морфологических характеристик опухоли с исследуемыми полиморфными вариантами

Клинико-морфологическая характеристика опухоли	Количество случаев (n)	Полиморфизм	
		XRCC1 p.Q399R	XRCC3 p.T241M
N — метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов (N <sub>0</sub> — нет, N <sub>1-3</sub> — есть)	132	>0,05	<b>0,006*</b>
G — степень злокачественности опухоли по Bloom–Richardson (G <sub>1</sub> –G <sub>3</sub> )	133	<b>0,007</b>	>0,05

\* — показаны статистически значимые различия, использовали критерий  $\chi^2$  (в случае p < 5 — точный критерий)



А



Б

Рис. 3. Связь генотипа по полиморфизму р.Р399Q в гене *XRCC1* со степенью злокачественности опухоли (G) (\* [здесь и далее] выявлены статистически значимые различия)

о значимой роли гомозиготного носительства по аллели G для пациентов с РМЖ. Таким образом, наличие гетерозиготного носительства по полиморфизму р. Q399R (*XRCC1*) может быть рассмотрено в качестве косвенного критерия потенциально высокой степени злокачественности опухоли (низкая и средняя степень дифференцировки), а наличие генотипа GG может быть поводом к усилению внимания врачебного персонала для идентификации РМЖ на ранних стадиях. Дополнительный статистический анализ (рис. 3 Б) также дает основания полагать, что именно гетерозиготное носительство по данному ОНП ассоциировано с более злокачественными формами РМЖ. Таким образом, по нашему мнению, определение генотипа по данному полиморфизму может иметь клиническую значимость.

Для удобства обозначения полиморфных аллелей используют термины «мажорный» и «минорный». Как правило, мажорный («дикий тип») аллель является наиболее широко распространенным в популяции и характеризуется неизменной функциональной активностью, тогда как минорный аллель («мутантный») встречается редко и обуславливает некоторые физико-химические вариации в активности кодируемого белка. Минорным аллелем в случае полиморфизма р. Q399R (*XRCC1*) является G. Тот факт, что гомозигота GG чаще определялась в случаях с высокодифференцированными формами опухоли, может быть объяснен следующим образом наличие двух минорных (с низкой функциональностью) аллелей является основанием к запуску параллельных каскадов реакций в той же репарационной направленности. А гетерозиготного состояния для этих целей оказывается недостаточно. Полученные нами данные хорошо согласуются с результатами работы Y. M. Hussien et al. (Hussien et al., 2012).

В то же время наличие гомозиготного носительства по патогенетической аллели T для ОНП р. T241M (*XRCC3*) оказывается напрямую связано с уровнем диссеминированности злокачественного процесса: при наличии гено-

типа TT наличие метастазов в регионарных лимфоузлах отмечается как минимум более чем в 5 раз чаще, чем их отсутствие ( $15,9 \pm 3,2\%$  при наличии метастазов против  $1,4 \pm 1,0\%$  при отсутствии метастазов) (рис. 4).

В исследовании R. Kiyra et al. не было найдено ассоциаций между ОНП g.11273G > C (RAD51) и р. T241M (*XRCC3*) и риском развития РМЖ, а также размером опухоли, статусом РЭ и РП в опухоли, гистологическим типом опухоли и степенью злокачественности (G) (Kiyra, 2009). Однако был отмечен риск локального метастазирования для ОНП р. T241M (*XRCC3*) — ОШ = 2,56, 95 % ДИ = [1,27–5,17].

Таким образом, впервые на выборке пациентов с РМЖ из Республики Беларусь показана роль основных патогенетически значимых полиморфных вариантов генов систем репарации в генезе данной онкопатологии: определены генотипы и аллели высокого риска развития РМЖ, охарактеризована связь исследуемых ОНП с клинико-морфологическими характеристиками опухоли. Предполагается, что полученные результаты будут востребованы в практическом здравоохранении.

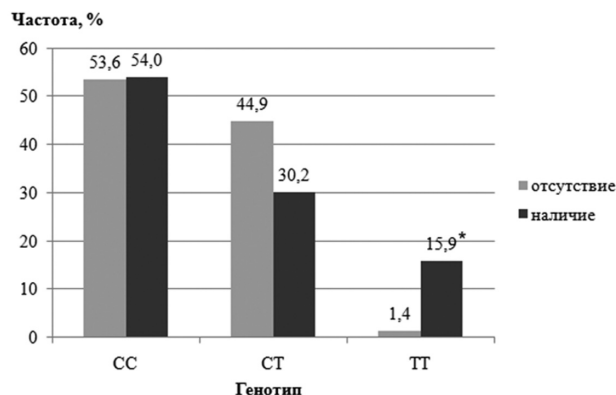


Рис. 4. Связь генотипа по полиморфизму р. T241M в гене *XRCC3* с наличием/отсутствием метастазов в регионарных лимфоузлах

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов проведенного исследования представляется возможным сделать ряд заключений.

1. Анализ патогенетически значимых ОНП ключевых генов систем репарации ДНК может иметь клиническую (в рамках персонализированного подхода в медицине) и прогностическую значимость при формировании групп повышенного риска развития РМЖ.
2. Определены генотипы повышенного риска развития РМЖ: АА для ОНП p.R559Q (*PALB2*) — ОШ=2,17, 95 % ДИ=[1,35–3,51], p=0,005; АГ для ОНП p.Q399R (*XRCC1*) — ОШ=1,81, 95 % ДИ=[1,19–2,76], p=0,005; ТТ для ОНП p.T241M (*XRCC3*) — ОШ=2,28, 95 % ДИ=[0,98–6,23], p=0,04.
3. Показана статистически значимая связь между генотипом GG ОНП p.Q399R (*XRCC1*) и степенью злокачественности опухоли (данный генотип ассоциирован с высоко- и среднедифференцированными опухолями).
4. Показана статистически значимая связь между наличием метастазов в регионарных лимфоузлах и генотипом ТТ для ОНП p.T241M (*XRCC3*). Также при наличии генотипа ТТ (p.T241M, *XRCC3*) показано значительное увеличение риска локального рецидивирования у пациентов с РМЖ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Мутовин Г.Р. (2010) Клиническая генетика. Геномика и протеомика наследственной патологии. М.: ГЭОТАР-Медиа.
2. Статистика онкологических заболеваний в Республике Беларусь, под ред. О.Г. Сукошко. 2014. 382 с.
3. Bu T., Liu L., Sun Y. et al. (2014) XRCC1 Arg399Gln polymorphism confers risk of breast cancer in American population: a meta-analysis of 10846 cases and 11723. PLoS One. V. 9 (1): P. 28.
4. Chen M.B., Li C., Wei M.X. et al. (2009) XRCC1 Arg399Gln, Arg194Trp and Arg280His polymorphisms in breast cancer risk: a meta-analysis. Mutagenesis. V. 24 (4): P. 331–339.
5. He X.F., Wei W., Li J.L. et al. (2013) Association between the XRCC3 T241M polymorphism and risk of cancer: evidence from 157 case-control studies. Gene. V. 4: P. 523.
6. Heil J., Gondos A., Rauch G. et al. (2012) Outcome analysis of patients with primary breast cancer initially treated at a certified academic breast unit. Breast. V. 21 (3): P. 303–308.
7. Johanson H.C., Valentine H., Carol W. et al. (2009) DNA elution from buccal cells stored on Whatman FTA Classic Cards using a modified methanol fixation method. Sturm BioTechniques. V.46: P. 309–311.
8. Hussien Y.M., Gharib A.F., Awad A.F. et al. (2012) Impact of DNA repair genes polymorphism (XPD and XRCC1) on the risk of breast cancer in Egyptian female patients. Mol Biol Rep. V. 39 (2): P. 1895–1901.
9. Kheirelseid E. A., Jumustafa H., Miller N. et al. (2011) Bilateral breast cancer: analysis of incidence, outcome, survival and disease characteristics. Breast Cancer Res Treat. V. 126 (1): P. 131–140.
10. Krupa R., Synowiec E., Pawlowska E. et al. (2009) Polymorphism of the homologous recombination repair genes RAD51 and XRCC3 in breast cancer. Exp Mol Pathol. V. 87 (1): P. 32–35.
11. Lucci A., Hall C. S., Lodhi A.K. et al. (2012) Circulating tumour cells in non-metastatic breast cancer: a prospective study. Lancet Oncol. V. 13 (7): P. 688–695.
12. Rodriguez S., Gaunt T.R., Day I.N.M. (2009) American Journal of Epidemiology Advance Access. DOI 10.1093/aje/kwn359/.
13. Romanowicz-Makowska H., Smolarz B., Zadrozny M. et al. (2011) Single nucleotide polymorphisms in the homologous recombination repair genes and breast cancer risk in Polish women. Tohoku J Exp Med. V. 224 (3): P. 201–208.
14. Silva S.N., Tomar M., Paulo C. et al. (2010) Breast cancer risk and common single nucleotide polymorphisms in homologous recombination DNA repair pathway genes XRCC2, XRCC3, NBS1 and RAD51. Cancer Epidemiol. V.34 (1): P. 85–92.
15. Sy S.M.H., Huen M.S.Y., Chen J.J. (2009) PALB2 is an integral component of the BRCA complex required for homologous recombination repair. Proc Natl Acad Sci. V. 15: P. 7155–7160.
16. Xia B., Sheng Q., Nakanishi K. et al. (2009) Control of BRCA2 cellular and clinical functions by a nuclear partner, PALB2. Molecular Cell. P. 719–729.
17. Zhang F., Ma J.L., Wu J.X. et al. (2009) PALB2 links BRCA1 and BRCA2 in the DNA-damage response. Current Biology. V. 15: P. 524–529.
18. Zipprich J., Terry M.B., Brandt-Rauf P. et al. (2010) XRCC1 polymorphisms and breast cancer risk from the New York Site of the Breast Cancer Family Registry: A family-based case-control study. J Carcinog. V.16 (9): P. 4.

## THE ROLE OF XRCC1, XRCC3 AND PALB2 GENES IN THE GENESIS OF BREAST CANCER

Kipen V.N., Melnov S.B., Smolyakova R.M.

✳ **SUMMARY:** *Background:* this study describes the contribution of *XRCC1*, *XRCC3* and *PALB2* genes in the genesis of sporadic forms of breast cancer in Belarus patients. *Materials and Methods:* this study included 169 patients with sporadic breast cancer and 185 healthy patients. The molecular genetic analysis was performed by RFLP and PAGE electrophoresis. *Results:* in this study we identified genotypes of high risk breast cancer patient's for *PALB2*, *XRCC1* and *XRCC3* genes. We also discovered a statistically significant associations between the GG genotype for p.Q399R (*XRCC1*) and tumor grade, and between TT genotype for *XRCC3* gene and the presence of metastases in the regional lymph

nodes. The patients with TT genotype (p.T241M, *XRCC3*) showed the fivefold increase in the risk of local breast cancer recurrence. Conclusion: For the first time it was determined the prevalence of polymorphic variants of the DNA repair genes: p.Q399R (*XRCC1*), p.T241M (*XRCC3*), p.T1100T (*PALB2*) and p.Q559P (*PALB2*) for Belarus patients with the breast cancer. Analysis of SNPs in the DNA repair key genes may have clinical and prognostic significance during the formation of high risk patient's groups developing the breast cancer.

✿ **KEYWORDS:** breast cancer; excision repair; homologous recombination; polymerase chain reaction; odds ratio.

#### REFERENCES (TRANSLITERATED)

- Mutovin G.R. (2010) Klinicheskaya genetika. Genomika i proteomika nasledstvennoy patologii [Clinical genetics. Genomics and proteomics of hereditary pathology]. Moskva. GEOTAR-Media.
- Statistika onkologicheskikh zabolevaniy v Respublike Belarus' [The statistics of oncological diseases in the Republic of Belarus], pod red. O.G. Sukonko. 2014, 382 s.
- Bu T., Liu L., Sun Y. et al. (2014) XRCC1 Arg399Gln polymorphism confers risk of breast cancer in American population: a meta-analysis of 10846 cases and 11723. PLoS One. V. 9 (1): P. 28.
- Chen M.B., Li C., Wei M.X. et al. (2009) XRCC1 Arg399Gln, Arg194Trp and Arg280His polymorphisms in breast cancer risk: a meta-analysis. Mutagenesis. V. 24(4): P. 331–339.
- He X.F., Wei W., Li J.L. et al. (2013) Association between the XRCC3 T241M polymorphism and risk of cancer: evidence from 157 case-control studies. Gene. V. 4: P. 523.
- Heil J., Gondos A., Rauch G. et al. (2012) Outcome analysis of patients with primary breast cancer initially treated at a certified academic breast unit. Breast. V. 21 (3): P. 303–308.
- Johanson H.C., Valentine H., Carol W. et al. (2009) DNA elution from buccal cells stored on Whatman FTA Classic Cards using a modified methanol fixation method. Sturm BioTechniques. V.46: P. 309–311.
- Hussien Y.M., Gharib A.F., Awad A.F. et al. (2012) Impact of DNA repair genes polymorphism (XPD and XRCC1) on the risk of breast cancer in Egyptian female patients. Mol Biol Rep. V. 39 (2): P. 1895–1901.
- Kheirelseid E.A., Jumustafa H., Miller N. et al. (2011) Bilateral breast cancer: analysis of incidence, outcome, survival and disease characteristics. Breast Cancer Res Treat. V. 126 (1): P. 131–140.
- Krupa R., Synowiec E., Pawlowska E. et al. (2009) Polymorphism of the homologous recombination repair genes RAD51 and XRCC3 in breast cancer. Exp Mol Pathol. V. 87 (1): P. 32–35.
- Lucci A., Hall C.S., Lodhi A.K. et al. (2012) Circulating tumour cells in non-metastatic breast cancer: a prospective study. Lancet Oncol. V. 13 (7): P. 688–695.
- Rodriguez S., Gaunt T.R., Day I.N.M. (2009) American Journal of Epidemiology Advance Access. DOI 10.1093/aje/kwn359/.
- Romanowicz-Makowska H., Smolarz B., Zadrozny M. et al. (2011) Single nucleotide polymorphisms in the homologous recombination repair genes and breast cancer risk in Polish women. Tohoku J Exp Med. V. 224(3): P. 201–208.
- Silva S.N., Tomar M., Paulo C. et al. (2010) Breast cancer risk and common single nucleotide polymorphisms in homologous recombination DNA repair pathway genes XRCC2, XRCC3, NBS1 and RAD51. Cancer Epidemiol. V.34 (1): P. 85–92.
- Sy S.M.H., Huen M.S.Y., Chen J.J. (2009) PALB2 is an integral component of the BRCA complex required for homologous recombination repair. Proc Natl Acad Sci. V. 15: P. 7155–7160.
- Xia B., Sheng Q., Nakanishi K. et al. (2009) Control of BRCA2 cellular and clinical functions by a nuclear partner, PALB2. Molecular Cell. P. 719–729.
- Zhang F., Ma J.L., Wu J.X. et al. (2009) PALB2 links BRCA1 and BRCA2 in the DNA-damage response. Current Biology. V. 15: P. 524–529.
- Zipprich J., Terry M.B., Brandt-Rauf P. et al. (2010) XRCC1 polymorphisms and breast cancer risk from the New York Site of the Breast Cancer Family Registry: A family-based case-control study. J Carcinog. V.16 (9): P. 4.

#### ✿ Информация об авторах

**Кипень Вячеслав Николаевич** — м. н. с., магистр биологических наук. Научно-исследовательская лаб. медико-биологических исследований. ГУ «НПЦ Гос. комитета судебных экспертиз Республики Беларусь». 220030, Минск, ул. Володарского, д. 2А. E-mail: slavakipen@rambler.ru.

**Мельнов Сергей Борисович** — д. б. н., профессор. Кафедра экологической и молекулярной генетики. УО «Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова» БГУ. 220070, Минск, ул. Долгобродская, д. 23. E-mail: sbmelnov@rambler.ru.

**Смолякова Раиса Михайловна** — д. б. н., доцент, зав. отделом канцерогенеза с морфологической группой. ГУ «Рес. научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова». 223040, агрогородок Лесной, Минский район. E-mail: smol60@mail.ru.

**Kipen Viachaslau Nikolaevich** — junior researcher, master of biological sciences. Scientific and Practical Center of the State Committee forensic examinations of Belarus. 220030, Minsk, Volodarskogo St., 2A, Belarus. E-mail: slavakipen@rambler.ru.

**Melnov Sergey Borisovich** — doctor of biological sciences, professor. International Sakharov Environmental University. 220070, Minsk, Dolgobrodskaya St., 23, Belarus. E-mail: sbmelnov@rambler.ru.

**Smolyakova Raisa Mikhaylovna** — doctor of biological sciences, professor, docent. Republican Scientific-Practical Center of Oncology and Medical Radiology. 223040, Minsk region, Agrogorodok, Belarus. E-mail: smol60@mail.ru.